

L I T E R A T U R A

1. Riview of The Agricultural Situation in Europe at the end of 1965, Volume I and II, Dairy products and Eggs, United Nation, New York, 1966.
2. Report of the Ad Hoc working group on the Economic Problems of Dairy products to the Committee on Commodity Problems, FAO, Rome, 1962.
3. XIV International Dairy Congress, Volume IV, Rome 1956.
4. Einar O. Petersen. Danish Dairying, Copenhagen, 1963.

Prof. dr M. Milohnoja, Ljubljana
Veterinarski oddelek BF

MIKROBIOLOŠKA KVALITETA I MIKROBIOLOŠKA ISPITIVANJA MASLACA*

Kada govorimo o mikrobiološkoj kvaliteti maslaca mislimo na slijedeće momente: 1. da li maslac sadržava patogene mikroorganizme i mikroorganizme — obligatne i fakultativne uzročnike trovanja hranom; 2. da li maslac sadržava mikroorganizme—kontaminante, koji ukazuju na slabe higijenske uvjete u proizvodnji, a koji mogu utjecati i na održljivost maslaca i 3. da li maslac sadržava mikroorganizme za koje znademo, da prouzrokuju pod izvjesnim okolnostima njegovo kvarenje.

1. Od patogenih mikroorganizama koji su do sada izolirani iz maslaca, moramo spomenuti bakterijske vrste *Mycobacterium tuberculosis* var. *bovis*, *Brucella abortus* i *B. melitensis* te salmonele. Osim toga izolirana je iz maslaca i rikecija *Coxiella burnetti*, te virus krpeljnog meningitisa i virus slinavke i šapa.

Maslac proizveden iz pasteuriziranog vrhnja tzv. čajni maslac neće sadržavati te patogene mikroorganizme. Izolirani su doduše patogeni mikroorganizmi i iz čajnog maslaca, ali je u tim primjerima otkrivena rekontaminacija vrhnja poslije pasteurizacije.

Od obligatnih uzročnika trovanja hranom u stručnoj literaturi je zabilježena izolacija salmonela iz maslaca. Za salmonele vrijedi isto, što smo kazali i za patogene mikroorganizme.

Od fakultativnih uzročnika trovanja hranom mogu se iz maslaca izolirati koagulaza—pozitivni stafilocoki, fekalni streptokoki, koliformi i vrlo rijetko, proteolitski klostridiji. Nigdje u literaturi nije zabilježena izolacija vrste *Bacillus cereus* iz maslaca.

Stafilokoke možemo često izolirati iz otisaka uzetih s mljekarskih strojeva, ali u maslac ne dopijevaju u većim količinama. U maslacu uskladištenom pri temperaturama nižim od 10°C ostaju stafilocoki na životu i do 6 mjeseci. Za one sojeve stafilokoka koji tvore hemolizu, fermentiraju manit, otapaju želatinu i daju pozitivnu reakciju na koagulazu, smatra se da luče tzv. enterotoksin koji prouzrokuje gastroenteritis. Prilikom pasteurizacije vrhnja enterotoksin se ne uništava, a pri temperaturi ispod 10°C se ne tvori.

U namirnicama koje su prouzrokovala trovanje hranom izolirani su koagulaza—pozitivni stafilocoki u količinama od 18 milijuna pa do više od 1 milijarde/g. Kao vektori bili su utvrđeni između ostalih namirnica mlijeko i vrhnje, ali nigdje u literaturi nije spomenut maslac.

* Referat održan na V seminaru za mljekarsku industriju pri Prehrambeno-tehnološkom institutu u Zagrebu.

Náš novi Pravilnik o bakteriološkim uvjetima kojima moraju odgovarati namirnice u prometu (u daljnjem tekstu PBU) i Pravilnik o promjenama PBU postavljaju za maslac normu, da *Staphylococcus pyogenes* var. *aureus* ne smije biti prisutan u 0,01 g maslaca. Ali ako maslac imade više od 100.000 piogenih stafilokoka u 1 g, ne smije se upotrijebiti za prehranu u stanju u kojemu je zatečen u prometu — maslac se mora preraditi u maslo.

Skoro 30% uzoraka maslaca prve i druge kvalitete koje smo ispitali zadnjih godina u našem institutu nije ispunjavalo spomenutu normu u pogledu koagulaza—pozitivnih stafilokoka, ali nijedan uzorak nije ih imao ni više od 100.000/g. Ako uzmemo u obzir da se enterotoksin prilikom kuhanja ne uništava, to bi maslac s velikim brojem koagulaza—pozitivnih stafilokoka (više od 500.000 /g) mogao prouzrokovati trovanje i onda kada bi bio topljen u maslo.

Fekalne streptokoke spadaju među bakterije koje prežive pasterizaciju. Preko 90% ispitanih uzoraka maslaca, koji su zadnje tri godine uzeti iz prometa u Sloveniji, sadržavalo je fekalne streptokoke u količinama od 10 do 1.000.000/g.

U zadnjih 40 godina opisano je preko 30 slučajeva trovanja hranom, za koje je dokazano, da su ih prouzrokovali *Streptococcus faecalis*, *Sc. faecalis* var. *liquefaciens* i atipični fekalni streptokoki. U inkriminiranim namirnicama ustanovljeni su u količinama od 2,5 do 500 milijuna/g. Vektor nije u nijednom slučaju bio maslac.

Náš PBU postavlja za maslac normu: *Sc. faecalis* ne smije biti prisutan u 0,001 g. Po takvoj interpretaciji 83% uzoraka maslaca, koje smo zadnjih godina ispitali, ne bi odgovaralo propisanom zahtjevu. Ako u maslacu imade fekalnih streptokoka više od 100.000/g onda se maslac mora preraditi u maslo. Pretopiti bi dakle trebalo 26% ispitanih uzoraka. Za informaciju navodim, da američka služba javnog zdravstva (American Public Health Association) u SAD predlaže za fekalne streptokoke normu: < 10 milijuna/g kao indikatora potencijalne opasnosti neke namirnice po ljudsko zdravlje.

U koliforme možemo u širem smislu ubrajati sve sojeve enterobakterija osim klasičnih patogenih tipova. Koliformi su netermorezistentne bakterije, pa njihov nalaz u čajnom maslacu znači, da je upotrijebljeno vrhnje bilo nedovoljno pasterizirano ili je poslije pasterizacije ponovno bilo kontaminirano. Kao uzročnici trovanja hranom ustanovljeni su samo oni sojevi bakterija *Escherichia coli* sa specifičnom antigenskom strukturom tzv. dispeptički kolitipovi. Pod istom sumnjom nalaze se i vrste iz rodova *Proteus* i *Arizona* dok uloga vrsta roda *Citrobacter* i *Providencia*, kao eventualnih uzročnika trovanja hranom nije još rasčišćena. Ostali koliformi nisu još bili osumnjičeni kao uzročnici trovanja hranom. U jednom slučaju trovanja hranom ustanovljeno je da je koliforma u inkriminiranoj namirnici bilo više od 1 milijarde u 1 g. Nigdje u literaturi nije zabilježeno da bi vektor bio maslac.

Náš novi PBU postavlja za maslac I kvalitete ovu normu: sojevi vrste *Escherichia coli* ne smiju biti prisutni u 0,01 g, a u maslacu II kvalitete u 0,001 g. Po takvoj bi se interpretaciji oko 50% uzoraka maslaca I kvalitete i oko 32% uzoraka maslaca II kvalitete, koje smo analizirali zadnjih godina, moralo pretopiti u maslo. Ta je norma nerealna i naučno neopravdana ako uzmemo u obzir, da osim nekih sojeva vrste *E. coli* dolaze u obzir kao potencijalni uzročnici trovanja hranom i tzv. »paracoli skupina« te da se u svijetu postavlja kao profilaktična norma negdje između 1 do 10 milijuna koliforma/g namirnice i da ih je u inkriminiranoj namirnici bilo više od 1 milijarde/g.

U literaturi gotovo nema podataka o pojavi anaerobnih sporoformirajućih u maslacu. Sojevi vrste *Clostridium perfringens* i *Cl. subterminale* prouzrokovali su trovanja ljudi; iz inkriminiranih namirnica izolirani su u količinama od 130.000 do 75 milijuna/g. U nijednom slučaju maslac nije bio vektor.

U našim ispitivanjima izolirali smo klostridije u količini do 10/g samo iz 21% uzoraka maslaca. Naš PBU postavlja kao kriterij manje od 100 sulfitoreduksijskih klostridija/g. Tu normu nije ispunjavalo svega 6% pretraženih uzoraka: nijedan uzorak maslaca nije ih imao više od 1000/g. Kuhanjem se klostridiji ne uništavaju, jer su termorezistentni pa treba, prema tome, maslac s više od 100.000 sulfitoreduksijskih klostridija/g smatrati kao štetan po ljudsko zdravlje. Spomenuta norma nije realna i iz razloga što svi sulfitoreduksijski klostridiji nisu potencijalni uzročnici trovanja hranom.

Na osnovu svega toga možemo tvrditi da u PBU fakultativni uzročnici trovanja hranom nisu tačno definirani, a norme za njihovo prisustvo u maslacu kao »indikatora potencijalne opasnosti po ljudsko zdravlje« su negdje pre-stroge, a drugdje opet naučno neopravdane.

2. U mikroorganizme—kontaminante, koji ukazuju na slabe higijenske uvjete u proizvodnji, a koji mogu utjecati i na postojanost maslaca možemo ubrojiti: ukupan broj aerobnih bakterija, broj plijesni i kvasaca te broj koliforma, dok neki autori predlažu i broj kazeolitičkih i broj lipolitičkih bakterija. Tu se radi o mikroorganizmima, kod kojih bi prekoračenje određenog standarda bio samo razlog odnosno upozorenje za nadzornog organa i proizvođača, da treba poboljšati higijenske uvjete proizvodnje. Mnogi autori nazivaju stoga te standarde »norme za higijensku kvalitetu«. Naš PBU takvih normi ne poznaje.

U pogledu normi za ukupan broj aerobnih bakterija postoji u svijetu niz prijedloga pojedinih autora i institucija; prijedlozi navode da je maslac, koji sadržava < 10.000 bakterija/g dobre higijenske kvalitete, a onaj koji sadrži > 1 milijun slabe higijenske kvalitete. Po tom kriteriju bi gotovo 75% uzoraka maslaca, kojeg smo analizirali iz prometa u Sloveniji u godinama 1963. do 1966. bilo slabe higijenske kvalitete, a jedva 5% uzoraka bilo bi vrlo dobre higijenske kvalitete.

Od velikog značenja za ocjenu higijenske kvalitete je broj plijesni i kvasaca. Maslac predstavlja za plijesni i kvasce dobar supstrat za razmnažanje. Plijesni se pojavljuju osobito na površini, rjeđe u unutrašnjosti maslaca. Najviše plijesni i kvasaca nalazimo u ljetno doba. Izvor su nečiste aparature, pribor i zrak, nedovoljna pasterizacija vrhnja i kontaminirani omotni materijal.

Gotovo sve države s razvijenim mljekarstvom određuju higijensku kvalitetu maslaca prema broju plijesni i kvasca. Nordisk metodik — Komite for Livsmeddel postavlja mikološku normu <10/g; American Public Health Association pak smatra, da maslac dobre kvalitete ne smije imati >20 kolonija plijesni i kvasaca/g. Svakako su to norme za maslac, koji je izrađen u metalnoj bučkalici; maslac izrađen u drvenoj bučkalici smatra se da je još higijenski kvalitetan ako imade <10.000 plijesni i kvasaca/g. Dok je norme <10/g plijesni i kvasaca ispunjavalo samo 2% po nama pretraženih uzoraka maslaca, normu <10.000/g ispunjavalo je 56% uzoraka. Svakako je manjak PBU da nema norme za higijensku kvalitetu i to: broj plijesni i kvasaca/g.

Broj koliforma ima također izvjestan značaj za ocjenu higijenske kvalitete, prije svega kod maslaca iz pasteriziranog vrhnja. Koliformi su indika-

tori fekalne kontaminacije i kao izraziti mezofili ne razmnažaju se na temperaturama ispod 10°C. Prisutnost koliforma nam govori da je upotrijebljeno vrhnje bilo nedovoljno pasterizirano ili po pasterizaciji ponovno kontaminirano.

Po kriterijima udruženja American Public Health Association ne smije maslac koji je proizveden u dobrim higijenskim uvjetima, sadržavati >10 koliforma/g. Istu normu postavlja i Nordisk metodik — Kommite for Livsmeddel za maslac I kvalitete. Ovu normu ispunjavalo je samo oko 40% od nas traženih uzoraka maslaca.

Na higijensku kvalitetu, a time i na održljivost utječe i količina proteolitskih tj. kazeolitskih mikroorganizama (i to proizvodima njihovog metabolizma). Svakako nije tu važna samo količina kazeolitskih mikroorganizama nego i njihova vrsta. Zbog toga nije utvrđena neka korelacija između broja kazeolita i održljivosti maslaca. American Public Health Association smatra, da maslac koji treba da izdrži duže uskladištenje mora imati <50 kolonija kazeolita/g. Pojedini autori tvrde, da je količina kazeolita u usporedbi sa ukupnim brojem aerobnih bakterija u početku niska; za vrijeme uskladištenja njihov broj raste i kod niskih temperatura, što znači da su kazeoliti pretežno psihrofili. U našim ispitivanjima maslaca svega je 32% uzoraka imalo <50 kolonija kazeolita/g.

Što smo kazali za kazeolitske mikroorganizme vrijedi i za lipolitske. Neki istraživači su dokazivali korelaciju između broja lipolita i održljivosti maslaca, kada je bio uskladišten pri temperaturama višim od 10°C, dok drugi nisu došli do tih rezultata. I lipoliti se za vrijeme uskladištenja razmnažaju. Nigdje u literaturi nismo našli podataka da se broj lipolitskih mikroorganizama postavlja kao norma za ocjenu valjanosti maslaca za ljudsku hranu. Samo je naš PBU postavio uvjet da maslac I i II kvalitete ne smije imati lipolitičkih bakterija u 0,0001 ml; maslac s više od 10.000 lipolitičkih bakterija/g treba pretopiti u maslo. Taj je uvjet strog i nerealan pogotovo vis-à-vis fakultativnih uzročnika trovanja hranom. Oko 50% od nas ispitanih uzoraka maslaca nije ispunjavalo tu normu; dakle, polovinu maslaca u prometu trebalo bi preraditi u maslo.

Sada smo razmotrili sve mikroorganizme odnosno pojedine skupine koje mogu u većoj ili manjoj mjeri utjecati na održljivost maslaca i koje su indikator slabih higijenskih uvjeta u proizvodnji. Možemo tvrditi da bi bilo realno i stručno opravdano, da naš PBU imade standarde kao indikatore higijenske kvalitete; najprikladniji bi za to bio broj plijesni i kvasaca, možda kombiniran s brojem koliforma. Dao bi nam bolji uvid u to što se zbivalo u tehnološkom postupku i kakva je prognoza održljivosti maslaca.

3. Mikroorganizmi, koji uzrokuju kvarenje maslaca — ako nastupaju pod izvjesnim okolnostima — jesu: *Pseudomonas putrefaciens*, *fragi*, *fluorescens*, *mephitica*, *nigrifaciens*, *Streptococcus lactis* var. *maltigenes*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Monilia*, *Torula* i dr. Njih ustanovljujemo obično samo iz uzoraka maslaca koji su kao pokvareni dopremljeni u laboratorij. Vrlo rijetko ih izoliramo iz sirovine (vrhnja) ili svježeg maslaca.

Toliko o mikrobiološkoj kvaliteti maslaca. A sada još nekoliko riječi o mikrobiološkoj analitici — barem ukoliko se razlikuje sama tehnika ispitivanja maslaca od one ostalih namirnica.

Sav stakleni pribor (pipete, epruvete i petrijevke) mora biti ugrijan na 35°C; iz termostata ga (zavijeno u sterilan papir) uzimamo prije same upotrebe. Također mora biti ugrijana na 35°C sterilna voda, fiziološka ili Ringerova otopina. Nikada ne smijemo analizirati nerazrijeđeni maslac; razrijeđen moramo uvijek prije pipetiranja dobro promiješati. Preciznije se radi ako određujemo količinu mikroorganizama na ml nego na g maslaca. Jedan ml maslaca nije 1 g.

Za određivanje ukupnog broja aerobnih bakterija u maslacu služi nam dobro kao hranjiva podloga tripton-proteoza agar i tripton-glukoza agar s kvascem (po PBU »hranjivi agar«); za određivanje fekalnih streptokoka: natrijev azid-kristalviolet-krvni agar, tripton-glukoza penicilin agar s kvascem i agar s kalijevim teluritom; za određivanje koliforma: dezoksiholat agar, dezoksiholat-laktoza agar, TTC agar, kristalviolet-neutralno crvenilo-žuč agar i tergitol 7 agar; za određivanje proteolitskih klostridija: sulfit-željezni agar i modificirana Wilson-Blairova podloga (po PBU); za određivanje koagulazapozitivnih stafilokoka: stafilokokni medij br. 110 i Champan-Stoneov agar; za određivanje kazeolitskih mikroorganizama: kazeinat agar i natrijev kazeinatni agar; za određivanje lipolitskih mikroorganizama: nilblau-sulfat agar, Rahnova podloga i tributirinski agar; za određivanje plijesni i kvasaca: tzv. »malt agar« i dekstrozni agar sa krumpirom.

Za zaključak: Utvrđivanje mikroflore maslaca u kvalitativnom i kvantitativnom pogledu ima nesumljivu vrijednost, želimo li ustanoviti, da li je maslac štetan po ljudsko zdravlje ili je slabe higijenske kvalitete. Želimo li pak ustanoviti održljivost maslaca i njegovu sposobnost za uskladištenje onda nam samo mikrobiološke pretrage nisu dovoljne — njih treba dopuniti s još nekim fizikalnim i kemijskim analizama, kao što su raspodjela vode u maslacu, pH seruma maslaca, kiselinški stupanj i peroksidni broj maslaca.

Literaturu se može dobiti od autora — Vetrinarski oddelek Biotehniške fakultete, Ljubljana, Gerbičeva 60.

Dipl. inž. Branko Fučić, Zagreb
Zagrebačka mljekara

PROIZVODNJA MASLACA U METALNOJ KUBUS BUČKALICI

U suvremenim mljekarskim pogonima više nema drvene opreme, pa je i »Zagrebačka mljekara« god. 1961. zamijenila svoju drvenu bučkalicu metalnom. Iako je time učinjen veliki korak naprijed u održavanju čistoće, pojavili su se problemi kojih nije bilo kod proizvodnje maslaca u drvenoj bučkalici s gnjetućima.

Kako sam u neslužbenim kontaktima s kolegama iz nekih naših mljekara saznao, da su i oni morali rješavati iste probleme, mislim da bi bilo od uzajamne koristi, da iznesem kako je to riješeno u našem pogonu.

Kod naravnavanja sadržine vode u maslacu na željeni postotak i postizavanje ravnomjernog rasporeda vode u što sitnijim kapljicama bilo je najviše poteškoća. Na osnovu iskustva utvrđeno je da se željenih 16,0 % vode još i dâ nekako naravnati kod male proizvodnje i uz veliku pažnju kod pripreme (zrenja) vrhnja i samog bućkanja. Međutim za naknadno dodavanje